

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PESQUISA

Programa de Bolsas de Iniciação Científica - PIBIC/UFS

**Projeto - Aplicações biotecnológicas de fungos micorrízicos e
fitopatogênicos na agricultura**

Plano de trabalho: Avaliação do crescimento de fungos fitopatogênicos na presença de corantes sintéticos
--

Área do conhecimento: Ciências Agrárias
Subárea do conhecimento: Fitossanidade

Bolsista: Geovania dos Santos Menezes
Nº Matrícula: 201410093937

Orientadora: Profa. Dra. Regina Helena Marino/DEA

Relatório Final
Julho-2017

Este projeto é desenvolvido com bolsa de Iniciação Científica —
PIBIC/UFS

Sumário

1. ATIVIDADES REALIZADAS PELA BOLSISTA REFERENTES AO PLANO DE TRABALHO	3
2. OUTRAS ATIVIDADES REALIZADAS PELA BOLSISTA	3
2.1. Artigo científico.....	3
2.1.1. Artigos científicos aceitos e em fase de editoração	3
2.2. Resumos expandidos	3
2.2.1. Resumos expandidos aceitos, em congresso nacional	3
2.2.2. Resumos expandidos aceitos, a serem apresentados em congresso nacional	3
2.2.3. Resumos expandidos, apresentados em congresso nacional	3
2.3. Resumos simples	4
2.3.1. Resumos simples, apresentados em encontro regional	4
2.3.2. Resumos simples, publicados em encontro regional	4
2.4. Participação de eventos	4
2.5. Participação em projetos de extensão.....	4
2.6. Participação em minicursos à distância	4
3. ANEXO: artigo científico (versão preliminar)	5

1. ATIVIDADES REALIZADAS PELA BOLSISTA REFERENTES AO PLANO DE TRABALHO

No período de agosto/2016 até julho/2017 foram realizados três bioensaios visando avaliar o crescimento e a esporulação do fungo fitopatogênico *Alternaria* sp. em meio de cultura à base de extrato de malte com corante azul de metileno, vermelho congo e cristal violeta. Os três bioensaios foram finalizados e estão em fase de elaboração de artigos científicos (item 3).

2. OUTRAS ATIVIDADES REALIZADAS PELA BOLSISTA

A bolsista, além das atividades previstas no plano de trabalho, participou das seguintes atividades:

2.1. Artigo científico

2.1.1. Artigos científicos aceitos e em fase de editoração

MENEZES, G. S.; CARVALHO, T. A.; ALMEIDA, W. S.; SUSSUCHI, E. M.; VIÉGAS, P. R. A. MARINO, R. H. Bioremediation potential of filamentous fungi in methylene blue: solid x liquid culture media. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, enviado em 10/07/2017.

CARVALHO, T. A.; MENEZES, G. S.; SANTOS, J. S.; GOIS, L. S.; NASCIMENTO, S. L. M.; MARINO, R. H. Interação microbiana e doses de fósforo no desenvolvimento da biomassa de gliricídia. **Revista Caatinga**, enviado em 24/05/2017.

2.2. Resumos expandidos

2.2.1. Resumos expandidos aceitos, em congresso nacional

MENEZES, G. S.; CARVALHO, T. A.; MENDONÇA, J. J.; SUSSUCHI, E. M.; MARINO, R. H. Degradação do corante azul de metileno por fungos de podridão branca em meio líquido. In: III REUNIÃO NORDESTINA DE CIÊNCIA DO SOLO. 2016. Aracaju. **Anais ...** Aracaju: 2016. p.1-4.

2.2.2. Resumos expandidos aceitos, a serem apresentados em congresso nacional

MENEZES, G. S.; CARVALHO, T. A.; MENDONÇA, J. J.; SUSSUCHI, E. M.; MARINO, R. H. Degradação do corante vermelho congo por fungos de podridão branca em meio líquido. In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROMETEOROLOGIA. 2017. Juazeiro. **Anais ...** Juazeiro: UNIVASF, 2017. p.1-5.

2.2.3. Resumos expandidos, apresentados em congresso nacional

MENEZES, G. S.; CARVALHO, T. A.; MENDONÇA, J. J.; SUSSUCHI, E. M.; MARINO, R. H. Degradação do corante azul de metileno por fungos de podridão branca em meio líquido. In: III REUNIÃO NORDESTINA DE CIÊNCIA DO SOLO. 2016. Aracaju. **Anais ...** Aracaju: 2016. p.1-4.

2.3. Resumos simples

2.3.1. Resumos simples, apresentados em encontro regional

MENEZES, G. S.; CARVALHO, T. A.; MENDONCA, J. J.; SUSSUCHI, E. M.; MARINO, R. H. Avaliação do potencial biorremediador de fungos de podridão branca. In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA. 2016. São Cristóvão. **Anais ...** São Cristóvão: UFS, 2016. p.61.

2.3.2. Resumos simples, publicados em encontro regional

MENEZES, G. S.; CARVALHO, T. A.; MENDONCA, J. J.; SUSSUCHI, E. M.; MARINO, R. H. Avaliação do potencial biorremediador de fungos de podridão branca. In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA. 2016. São Cristóvão. **Anais ...** São Cristóvão: UFS, 2016. p.61.

CARVALHO, T. A.; MENDONCA, J. J.; MENEZES, G. S.; SANTOS, J. S.; MARINO, R. H. Efeito de inoculantes micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de *Gliricidia sepium*. In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA. 2016. São Cristóvão. **Anais ...** São Cristóvão: UFS, 2016. p.53.

2.4. Participação de eventos

- III Reunião Nordestina de Ciência do Solo realizado no período de 12 a 15 de setembro de 2016, com carga horária total de 12 horas.
- 26º Encontro de Iniciação Científica, Universidade Federal de Sergipe, realizado de 17 a 21 de outubro, em São Cristóvão - SE.

2.5. Participação em projetos de extensão

- Participação como colaboradora voluntária no projeto de extensão: "Extensão rural aos pequenos produtores rurais orgânicos", até o período de novembro/2016.
- Atividade de extensão: Controle de *Fusarium* sp. por solarização, realizado no período de abril a julho de 2017, em uma propriedade orgânica localizada no município de Areia Branca, Sergipe.

2.6. Participação em minicursos à distância

- Sistemas de Produção e Pastagem para Bovinocultura de Leite, no portal de educação do SENAR, no período de 08/02/2017 a 24/03/2017 com carga horária de 40 horas.
- Gestão de Segurança, Saúde e Meio Ambiente de Trabalho Rural, no portal de educação do SENAR, no período de 26/04/2017 a 25/05/2017 com carga horária de 20 horas.

3. ANEXO: artigo científico (versão preliminar)

Com base nos resultados obtidos foi elaborado um artigo científico, conforme segue abaixo, cuja discussão será realizada acrescentada posteriormente.

Influência de corantes sintéticos no crescimento micelial e esporulação de *Alternaria* sp.

RESUMO - O fungo *Alternaria* sp. é um importante fungo fitoparasita, que causa manchas foliares e podridão de frutos, em diversas espécies vegetais de importância econômica. No entanto, não foram encontrados estudos relacionados sobre o efeito de corantes no crescimento deste fungo fitopatogênico. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento micelial e a esporulação da *Alternaria* sp., em meio de cultura à base de extrato de malte - ágar suplementado com 0, 50, 100, 200, 400 mg L⁻¹ dos corantes azul de metileno, vermelho congo e cristal violeta. O azul de metileno e o cristal violeta inibem o crescimento em diâmetro micelial do isolado de *Alternaria* sp., a partir de 50 mg L⁻¹. O aumento da concentração de corante cristal violeta inibe o crescimento em diâmetro da hifa e a esporulação de *Alternaria* sp. O vermelho congo estimula o crescimento em diâmetro micelial com o emprego de 400 mg L⁻¹, mas o aumento do diâmetro hifa, com doses crescentes de corante, inibe a esporulação. O azul de metileno, o vermelho congo e o cristal violeta favorecem a formação de setores de crescimento micelial. A esporulação da *Alternaria* sp. é influenciada pelo diâmetro da hifa e pela concentração do corante. O azul de metileno, o vermelho congo e o cristal podem ser utilizados como alternativa no controle do fungo fitopatogênico *Alternaria* sp., com 50, 100 ou 400 mg L⁻¹ do corante. A *Alternaria* sp. apresenta potencial biorremediador, pois apresenta capacidade de degradar o corante, a depender da composição química e da concentração.

Palavras-chave: Biotecnologia, microbiologia do solo, fitopatologia, fitopatógenos.

INTRODUÇÃO

A *Alternaria* sp. é um fungo fitopatogênico que ocasiona principalmente a cultura do tomateiro, causando prejuízos econômicos devido a seu elevado poder destrutivo, sobre as folhas, hastes, pecíolo e os frutos. A gravidade do ataque de *Alternaria* sp. na lavoura, se dá através de alguns fatores como, cultivar utilizada, condições ambientais favoráveis e taxa de progresso da doença. (PEREIRA *et al.*, 2013; TÖFOLI & DOMINGUES, 2006).

Uma das medidas de controle da *Alternaria* é através do controle cultural que emprega práticas culturais, como rotação de cultura, adubação orgânica, irrigação e espaçamento adequados, entre outras medidas, bem como o controle químico, por meio de fungicidas (BENEVIDES & MARINHO, 2015; TÖFOLI & DOMINGUES, 2010). O tratamento de sementes por fungicidas protege ou elimina patógenos, sendo uma medida de controle econômica (PARISI & MEDINA, 2014) e que evita a disseminação de patógenos em campo. Outra forma de se controlar agentes fitopatogênicos é através de extratos aquosos, neste sentido Borges *et al.* (2013) citam que emprego de extrato de *Mimosa tenuiflora* (jurema preta) foi eficiente na redução da incidência da mancha de Alternária, em melancia.

Os corantes sintéticos são compostos de difícil degradação, sendo utilizados como indicadores do tratamento químico das sementes com fungicidas. No entanto, os corantes sintéticos podem ser utilizados como fonte de carbono pelos microrganismos do solo (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). Neste contexto, Andrade *et al.* (2010) e Benevides e Marinho (2015) relatam que os fungos filamentosos com potencial biorremediador, capazes de degradar o corante, podem ser selecionados “in vitro”. No entanto, não foram encontrados relatos sobre o efeito do corante sintético no crescimento micelial e na esporulação de fungos fitopatogênicos. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento micelial e a esporulação do fungo *Alternaria* sp., em meio de cultura suplementado com corantes sintéticos.

MATERIAL E MÉTODOS

O fungo utilizado foi a *Alternaria* sp. isolado de fruto de tomateiro foi multiplicado em meio de cultura à base de extrato de malte (25 g L^{-1}) e ágar (30 g L^{-1}), por sete dias, à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, sem fotoperíodo.

Os corantes testados foram azul de metileno, vermelho congo e cristal violeta, nas concentrações de 0, 50, 100, 200 e 400 mg L^{-1} de meio de cultura à base de extrato de malte-ágar. Para tanto, o corante foi adicionado ao meio autoclavado após o resfriamento a $45\text{-}50^\circ\text{C}$. O meio de cultura contendo o corante, por concentração, foi homogeneizado e distribuído em placas de Petri autoclavadas. Após a solidificação do meio de cultura, foi transferido um disco inoculante de 0,6 mm de diâmetro, com a parte com o micélio voltada para o meio de cultura. O cultivo do fungo foi realizado em incubadora a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de oito horas de luz.

As variáveis avaliadas foram: diâmetro micelial, diâmetro da hifa, números de esporos, taxa de crescimento micelial e taxa de crescimento da hifa por corante e concentração.

O diâmetro micelial (DM) foi obtido a partir de duas medições cruzadas do diâmetro da colônia, após sete dias de incubação com o corante azul de metileno e cristal violeta, e após quatro dias de incubação, com vermelho congo. A taxa de crescimento micelial (TCM) foi obtida pela equação: $\text{TCM} (\text{cm dia}^{-1}) = (\text{Diâmetro micelial, em centímetros} / \text{período de avaliação, em dias})$.

O diâmetro da hifa foi avaliado em lâminas com o micélio cultivado em microcultura. Para tanta, uma lâmina foi fixada com cliques nas extremidades e disposta sobre um papel de filtro acondicionado em uma placa de Petri. O conjunto foi autoclavado e após o resfriamento, foi adicionado água destilada autoclavada e transferido três discos miceliais de 0,4 mm sobre uma lâmina, por concentração de corante. Em seguida, foi depositado uma lamínula flambada sobre cada disco inoculante. O fungo foi cultivado em incubadora a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, por quatro dias, com fotoperíodo de 8 horas de luz. Após o período de cultivo, os discos miceliais foram retirados e as lamínulas com o crescimento micelial foram transferidas para lâminas com azul de metileno. O micélio desenvolvido nas lâminas foi corado com azul de metileno e depositada uma lamínula. Foram realizadas quatro repetições por concentração de corante.

Para contagem do número de esporos e de hifas, as lâminas foram quadriculadas, a cada 5 mm e ao acaso foram escolhidos quatro quadrantes e avaliados cinco hifas e contado o número de esporos, por quadrante. As avaliações foram realizadas ao microscópio ótico, com aumento de 40 x para contagem do número de esporos e de 100x para determinação do diâmetro da hifa, com auxílio de retículo micrométrico. A taxa de crescimento do diâmetro da hifa (TCH) foi obtida pela equação: $\text{TCH} (\mu\text{m dia}^{-1}) = (\text{Diâmetro da hifa, em } \mu\text{m} / \text{período de avaliação, em dias})$.

Os resultados obtidos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e nos casos em que houve diferença significativa foi aplicado o Teste de Scott-Knott a 5% de significância para comparação das médias. Nas análises de correlação foi aplicado o Teste t e todas as análises estatísticas foram realizadas no programa Assistat versão 7.7 (SILVA e AZEVEDO, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O aumento da concentração dos corantes azul de metileno e cristal violeta de 0 para 400 mg L^{-1} reduziu 46,9% e 61,3%, respectivamente, o diâmetro micelial da *Alternaria* sp., cujo comportamento foi ajustado ao modelo de regressão linear, nos dois corantes (Figura 1).

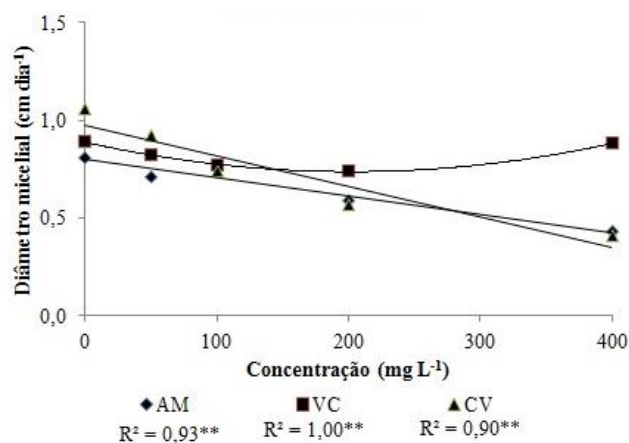


Figura 1 – Diâmetro micelial (cm dia⁻¹) da *Alternaria* sp. cultivado em meio de cultura à base de extrato de malte-ágar com 0, 50, 100, 200 e 400 mg L⁻¹ de azul de metileno (AM), vermelho congo (VC) e cristal violeta (CV), com os respectivos coeficientes de determinação obtidos na análise de regressão.

ns=não significativo; *=significativo a 5% de probabilidade ($0,1 \leq p < 0,5$) e **= significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,1$)

Os corantes sintéticos também podem ser utilizados como fontes de carbono pelos fungos filamentosos e estimular a formação de biomassa micelial. No corante vermelho congo houve redução de 1,1% no crescimento do diâmetro micelial da *Alternaria* sp. com o aumento da concentração do corante de 0 para 400 mg L⁻¹, mas apresentou incremento no diâmetro micelial de 18,9% com o aumento de 200 para 400 mg L⁻¹ do corante, sendo foi ajustado à regressão quadrática (Figura 1).

Segundo Kyndjadia et al. (2016) e Pereira *et al.* (2010), os fungos filamentosos podem descolorir o meio de cultura com corantes devido ação de enzimas, como as peroxidases comumente encontradas em fungos de podridão branca. Entretanto, Ferreira Pinto (2007) cita que o fungo *Alternaria alternata* é um fungo de podridão mole, capaz de degradar a celulose e a hemicelulose, mas altera parcialmente a estrutura lignina, quando comparado à ação dos fungos de podridão branca que podem degradar por completo a lignina e, consequentemente, apresentar potencial para descolorir corantes sintéticos.

Neste contexto, o cultivo da *Alternaria* sp. em meio com dosagens crescentes do corante cristal violeta não resultou na descoloração do meio de cultura, apesar do aumento do diâmetro micelial. Enquanto que, o cultivo do isolado fúngico em meio de cultura com o corante azul de metileno houve a formação de halos de descoloração na concentração de 100 mg L⁻¹, mesmo com a redução do diâmetro micelial de 4,9%, em relação ao controle (0 mg L⁻¹ de corante). Por outro lado, a *Alternaria* sp. não promoveu a descoloração do meio de cultura com o corante vermelho congo, em todas as concentrações testadas. Desta forma, a ação degradadora do corante pelo isolado fúngico de *Alternaria* sp., caracterizada pela formação de halos no meio de cultura, depende da composição química e da concentração do corante. Vale ressaltar que, este isolado demonstrou potencial para biorremediação, pois apresentou a capacidade de degradar o corante azul de metileno, similar ao obtido por Pizato (2013) com o fungo fitopatogênico *Lasiodiplodia theobromae*, que promoveu a descoloração do meio contendo o corante azul reativo presente em efluente industrial.

Além disso, é importante considerar que determinadas substâncias químicas podem promover mutações e influenciar na pigmentação e no adensamento do crescimento micelial. Neste trabalho, o emprego dos corantes azul de metileno e vermelho congo promoveram a formação de dois setores com crescimento micelial distintos. No meio de cultura com o corante azul de metileno foram formados setores caracterizados pela presença de micélio branco (setor 1) e micélio verde-marrom (setor 2). No meio com o corante vermelho congo, o setor 1 foi caracterizado por micélio branco e no setor 2 verde-marrom. No cristal violeta, o micélio foi branco foi observado no setor 1 (micélio jovem, sem

esporulação) e no setor 2, no centro da placa, com micélio verde-marrom, característico do micélio em esporulação (Figura 2).

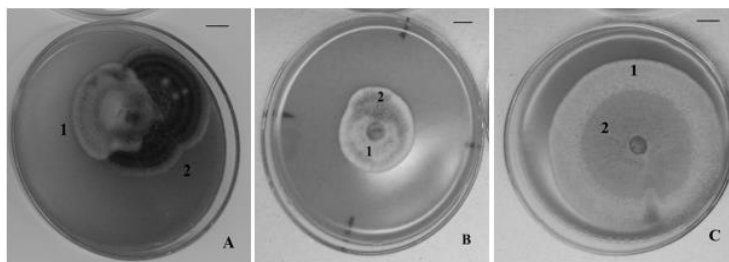


Figura 2 - Setores miceliais 1 e 2 do fungo *Alternaria* sp. em meio de cultura à base de extrato de malte com corante azul de metileno (A), vermelho congo (B) e cristal violeta (C).

No crescimento micelial dos setores 1 e 2, o diâmetro da hifa reduziu com o emprego dos corantes azul de metileno e cristal violeta, em relação ao corante vermelho congo, em todas as concentrações testadas. No azul de metileno, o diâmetro da hifa foi ajustado à regressão quadrática no setor 1, caracterizada pela redução de 16,7% com o aumento da concentração do corante de 100 para 400 mg L⁻¹. No setor 2, o diâmetro da hifa não foi ajustado a nenhum modelo de regressão, com o aumento da concentração do corante azul de metileno, pois manteve a taxa de crescimento de 0,06 $\mu\text{m dia}^{-1}$ (Figura 3).

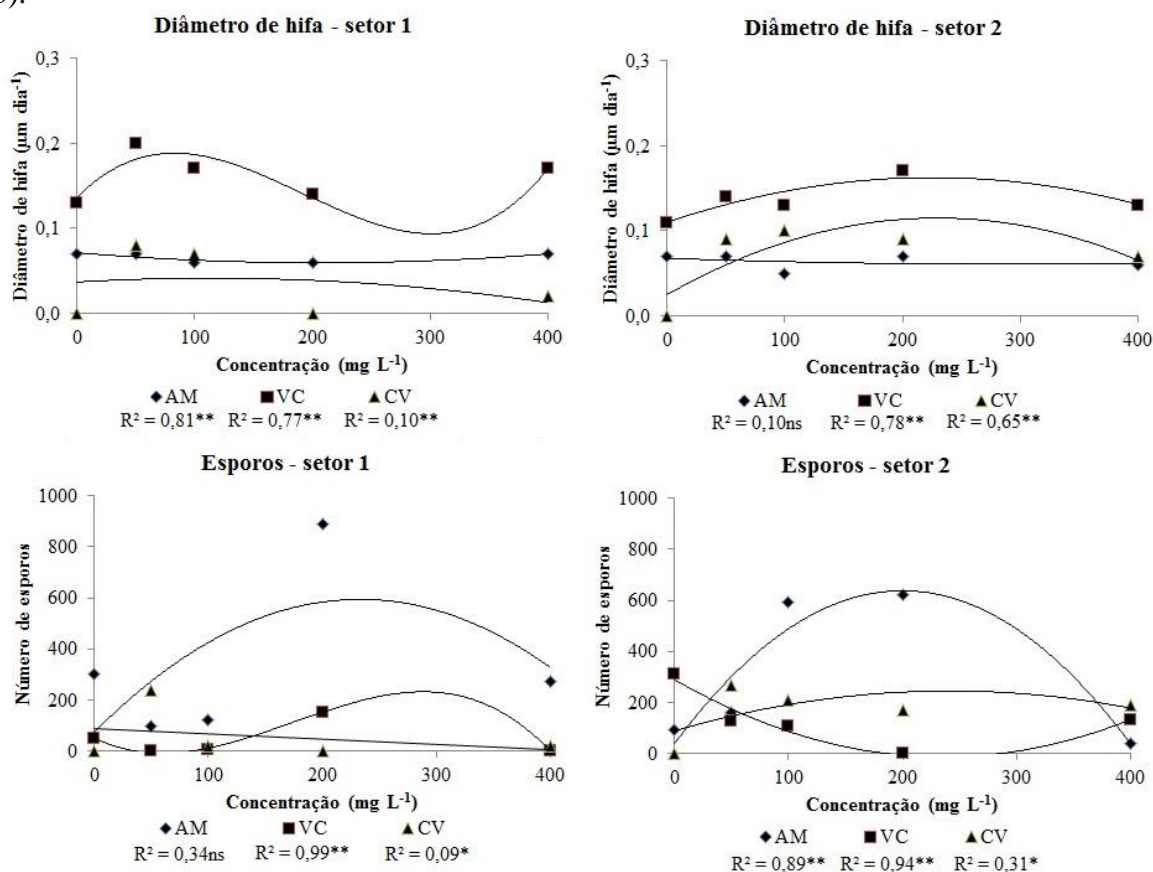


Figura 3 - Análise de regressão do diâmetro da hifa ($\mu\text{m dia}^{-1}$) e do número de esporos da *Alternaria* sp., com o emprego de 0, 50, 100, 200 e 400 mg L⁻¹ de azul de metileno (AM), vermelho congo (VC) e cristal violeta (CV) em meio de cultura.

¹ns=não significativo; *=significativo a 5% de probabilidade ($0,1 \leq p < 0,5$) e **= significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,1$)

No corante cristal violeta, o diâmetro da hifa foi ajustado à regressão quadrática nos dois setores miceliais, com o aumento da concentração do corante. Neste tratamento, no setor 1, o emprego de 50 e 100 mg L⁻¹ do corante estimulou o crescimento do diâmetro da hifa, seguido pela redução com 200 e 400 mg L⁻¹ do corante. No setor 2, houve redução de 20% do diâmetro da hifa em relação à concentração de 50 mg L⁻¹ do corante, mas o emprego de 100 mg L⁻¹ do corante estimulou o aumento de 8% no diâmetro da hifa da *Alternaria* sp. (Figura 3).

Em relação ao vermelho congo, no setor 1, o diâmetro da hifa foi ajustado à regressão cúbica, com aumento de 53,8% no diâmetro com o emprego de 50 mg L⁻¹ do corante e de 13,1% com 100 e 400 mg L⁻¹, em relação ao controle (0 mg L⁻¹). Entre 200 e 400 mg L⁻¹ houve redução do diâmetro da hifa. No setor 2, o diâmetro da hifa foi ajustado à regressão quadrática, sendo caracterizado pelo aumento de 54,6% nesta variável, na concentração de 200 mg L⁻¹ em relação ao controle, seguido pela redução de 23,5% no diâmetro da hifa no tratamento com 400 mg L⁻¹ (Figura 3).

Considerando a esporulação, nos setores 1 e 2, o emprego dos corantes vermelho congo e cristal violeta resultaram em menor número de esporos, em comparação ao corante azul de metileno, exceto na concentração de 400 mg L⁻¹, que o corante azul de metileno apresentou o menor número de esporos (Figura 3).

O corante azul de metileno na concentração de 50 mg L⁻¹ reduziu o número de esporos em 68,3%, mas o aumento de 0 para 200 mg L⁻¹ resultou no incremento de 293,6% na esporulação, comportamento este não ter sido ajustado a nenhum modelo de regressão e não foi correlacionado com diâmetro da hifa. No setor 2, a concentração de 400 mg L⁻¹ reduziu 58,7% o número de esporos, em relação ao controle (sem corante) e 94%, em relação 200 mg L⁻¹ que apresentou aumento significativo do número de esporos, tendo sido ajustado à regressão quadrática e correlacionado negativamente com o diâmetro da hifa (Figura 3, Tabela 1).

Tabela 1 – Coeficiente de correlação (r) entre os parâmetros de diâmetro de hifa (DH) e número de esporos (ESP) da *Alternaria* sp. em meio de cultura com corante azul de metileno, vermelho congo e cristal violeta

Corante/ setor		Coeficiente de correlação (r), por concentração de corante (mg L ⁻¹)					
		0	50	100	200	400	0 a 400
Azul de metileno	setor 1	0,186 ns	-0,062 ns	-0,112 ns	0,118 ns	-0,484 ns	0,018 ns
	setor 2	-0,297 ns	-0,630 ns	0,643 ns	-0,995 **	-0,266 ns	-0,015 ns
Vermelho congo	setor 1	-0,007 ns	0,000 ns	0,083 ns	0,498 ns	0,000 ns	-0,534 *
	setor 2	0,236 ns	-0,271 ns	-0,517 ns	-0,996**	-0,230 ns	-0,674**
Cristal violeta	setor 1	0,000 ns	-0,588 ns	-0,369 ns	0,000 ns	0,633 ns	0,638 **
	setor 2	0,000 ns	-0,598 ns	0,107 ns	-0,731 ns	0,108 ns	0,576 **

ns=não significativo; *=significativo a 5% de probabilidade ($0,1 \leq p < 0,5$) e **= significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,1$)

No setor 1, o número de esporos aumentou 313,3% com 200 mg L⁻¹ do corante vermelho congo, em relação ao controle, mas apresentou redução significativa com 50, 100 e 400 mg L⁻¹, tendo sido ajustado à regressão cúbica. A redução da esporulação com 400 mg L⁻¹ do corante foi correlacionada negativamente com o diâmetro da hifa. No setor 2, o aumento da concentração do corante reduziu a esporulação, em até 99,9% com o emprego de 200 mg L⁻¹, sendo ajustado à regressão quadrática, tendo sido também correlacionado negativamente com o diâmetro da hifa com 200 e 400 mg L⁻¹ do corante (Figura 3, Tabela 1).

No corante cristal violeta, a *Alternaria* sp. não esporulou no controle, nos dois setores. No setor 1, o aumento da concentração de 50 para 400 mg L⁻¹ do corante reduziu significativamente a esporulação, sendo ajustado ao modelo de regressão linear e foi correlacionado positivamente com o diâmetro da hifa, considerando o aumento da concentração do corante. No setor 2, houve também redução da esporulação com o emprego de 200 a 400 mg L⁻¹, em comparação a 50 e 100 mg L⁻¹ do corante, tendo

sido ajustado à regressão quadrática (Figura 3). A redução da esporulação, com o aumento da concentração do corante foi correlacionada com o aumento do diâmetro da hifa (Tabela 1).

De forma geral, a esporulação da *Alternaria* sp. foi influenciada pelo corante e pelas concentrações, podendo estimular ou inibir. Da mesma forma, Itako *et al.* (2008) relatam que o emprego do extrato de cânfora (*Artemisia camphorata*), capim-limão (*Cymbopogon citratus*) reduziram a esporulação em até 99%. E Borges *et al.* (2013) citam que o extrato aquoso de casca da raiz de jurema preta (*Mimosa tenuiflora*) foi o mais eficiente na inibição da esporulação da *Alternaria cucumerina*, na concentração de 5,0 mg mL⁻¹, proporcionando 100% de inibição. Não foram encontrados relatos na literatura sobre o efeito dos corantes no crescimento das hifas e na esporulação de fungos fitopatogênicos, mas os resultados obtidos neste trabalho, demonstram que a depender da concentração, os três corantes testados podem ser utilizados no controle da *Alternaria* sp. como, por exemplo, no tratamento de sementes.

CONCLUSÕES

Os corantes azul de metileno e cristal violeta inibem o crescimento em diâmetro micelial do isolado *Alternaria* sp., a partir de 50 mg L⁻¹.

O aumento da concentração de corante cristal violeta inibe o crescimento em diâmetro da hifa e a esporulação da *Alternaria* sp.

O vermelho congo estimula o crescimento em diâmetro micelial com o emprego de 400 mg L⁻¹, mas o aumento do diâmetro hifa, com doses crescentes de corante, inibe a esporulação.

Os corantes azul de metileno, vermelho congo e cristal violeta favorecem a formação de setores de crescimento micelial.

A esporulação da *Alternaria* sp. é influenciada pelo diâmetro da hifa e pela concentração do corante.

O azul de metileno, vermelho congo e cristal podem ser utilizados como alternativa no controle do fungo fitopatogênico *Alternaria* sp., com 50, 100 ou 400 mg L⁻¹ do corante.

A *Alternaria* sp. apresenta potencial biorremediador, pois apresenta capacidade de degradar o corante, a depender da composição química e da concentração.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, J. A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, I. C. S. F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Revista Eclética Química**, v.35, n.3, p. 17-43, 2010.

BENEVIDES, J. A. J.; MARINHO, G. M. Degradação de pesticidas por fungos – uma revisão. **HOLOS**, v. 2, n.31, p. 110-129, 2015.

BORGES, I. V.; PEIXOTO, A. N.; CAVALCANTI, L. S.; LIMA, M. A. G.; SILVA, M. S. Extratos de jurema preta no controle de mancha-de-alternaria em melancia. **Revista Caatinga**, v.26, n.3, p. 36-45, 2013.

FERREIRA PINTO, F. Degradação de madeiras por fungos: aspectos biotecnológicos e de biorremediação. 2006. 46 f. Monografia (Pós-graduação em Microbiologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, 2006.

ITAKO, A. T.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Atividade antifúngica e proteção do tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Tropical Plant Pathology**, v.33, n.3, p. 241-244, 2008.

KUNDJADIA, P. D.; SANGHVI, G. V.; KUNJADIA, A. P.; MUKHOPADHYAY, P. N.; DAVE, G. S. Role of ligninolytic enzymes of white rot fungi (*Pleurotus* spp.) grown with azo dyes. **SpringerPlus**, v.5, n.1, p.1487-1490, 2016.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2006. 303 p.

PARISI, J. J. D.; MEDINA, P. F.; Tratamento de Sementes. Instituto Agronômico de Campinas – IAC. Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Fitossanidade, 2014. Disponível em: http://www.iac.sp.gov.br/imagem_informacoestecnologicas/81.pdf. Acesso em: 27/06/2017.

PEREIRA, A. R. B.; BUENO, F. L.; SANTOS, S. C.; LIMA, C. A. A.; DIAS, A. L. T. Biodegradação de corantes e efluentes têxteis por fungos. **Holos Environment**, v.10, n.2, p. 165-179, 2010.

PEREIRA, R. B.; CARVALHO, A. D. F.; PINHEIRO, J. B. **Manejo da pinta preta: uma ameaça às lavouras de tomateiro a céu aberto**. Brasília, DF: EMBRAPA HORTALIÇAS, 2013. 5p. (EMBRAPA HORTALIÇAS. Comunicado Técnico, 95).

PIZATO, E. Avaliação da capacidade de remoção de corante têxtil pelo fungo *Lasiodiplodia theobromae* MMPI em efluente sintético e industrial. 2013. 100 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2013.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. de. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 4, p.71-78, 2002.

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J. **Alternarioses em hortaliças: sintomas, etiologia e manejo integrado**. 2006. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2006_3/alternarioses/Index.htm>. Acesso em: 27/06/2017

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J. Sintoma, etiologia e manejo da queima das folhas (*Alternaria dauci*; *Cercospora carotae*) na cultura da cenoura. **Biológico**, v.72, n.1, p. 47-50, 2010.